AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
UNIVERSITÄT ROSTOCK
(DIREKTOR: PROFESSOR DR. *E. KEESER*)

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG VON FERMENTEN DURCH AETHYLALKOHOL

DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER ZAHNÄRZTLICHEN DOKTORWÜRDE
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT
ROSTOCK

VORGELEGT VON

ERICH BOCK
AUS DEUTSCH USCH

ROSTOCK
CARL HINSTORFFS HOFBUCHDRUCKEREI
1932

Referent: Professor Dr. *Keeser*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Ueber die Beeinflussung von Fermenten durch Aethylalkohol.

Die volkstümliche Verwendung des Äthylalkohols als verdauungsförderndes Mittel hat ihre Parallele in der ärztlichen Übung, alkoholische Getränke allein oder zusammen mit anderen geeigneten Substanzen mit dem Ziel der Hebung des Appetits und damit des Allgemeinbefindens oder als Kräftigungsmittel überhaupt zu verordnen. Wie weit ein derartiges therapeutisches Handeln pharmakologisch begründet und damit berechtigt ist, muß die experimentelle Prüfung entscheiden.

Daß Alkohol in bestimmten Konzentrationen die Magensaftsekretion steigert, ist seit langem bekannt. Auch über den Einfluß des Alkohols auf fermentative Vorgänge liegt bereits eine Reihe von Untersuchungen vor. Bei der Untersuchung dieser Frage wandte sich das Interesse aus naheliegenden Gründen vor allem der Einwirkung des Alkohols auf die Verdauungsfermente zu.

Die bisher vorgenommenen Untersuchungen über den Ablauf von Fermentreaktionen in vitro bei Zusatz von Äthylalkohol geben indessen kein einheitliches Bild. Über die Ergebnisse solcher Untersuchungen älteren Datums (bis 1923) gab Kochmann[1]) eine zusammenfassende Darstellung. Aus dieser geht hervor, daß Alkohol die Fermenttätigkeit aufhebt, und zwar bei kürzerer Einwirkung oder in niedrigen Konzentrationen im Sinne einer reversiblen, bei längerer Einwirkung oder höheren Konzentrationen im Sinne einer irreversiblen Lähmung. Durch hohe Alkoholkonzentrationen wird eine Fällung der Fermente erzielt. Einige Untersucher geben allerdings an, daß Alkohol in niedriger Konzentration eine Förderung der Fermenttätigkeit bewirke. Zum Beispiel beobachtete Klikowicz[2]), daß durch Alkohol in einer Konzentration

von 5 % die Peptisierung gefördert wurde, während 10 %iger Alkohol diese stark hemmte und bei 15 % Alkoholgehalt die Pepsinverdauung aufgehoben wurde. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Chittenden und Mendel[3]), auf deren Untersuchungen später noch eingegangen werden soll. Nach Angabe der letztgenannten Autoren soll die amylatische Wirkung nicht zu verdünnten Speichels durch 5 %ige Alkoholkonzentration ebenfalls eine leichte Zunahme erfahren. Im ganzen ergibt sich aus der Literatur, daß die einzelnen Fermente dem Äthylalkohol gegenüber offenbar verschieden empfindlich sind, denn es sind verschieden hohe Alkoholkonzentrationen erforderlich, um die einzelnen Fermente jeweils zu hemmen. Indessen weichen die Angaben über die Höhe der Alkoholkonzentration, bei der eine Lähmung der Fermenttätigkeit eintritt, bei den einzelnen Autoren stark voneinander ab. Die meisten Untersuchungen dieser Art liegen über die Frage der Einwirkung des Alkohols auf das Pepsin vor. Da in den Magen unter Umständen Alkohol in hoher Konzentration gelangen kann, interessiert hinsichtlich der Einwirkung auf Pepsin ein verhältnismäßig großer Konzentrationsbereich des Alkohols. In den tieferen Darmabschnitten, im Duodenum und Jejunum, nimmt die Alkoholkonzentration infolge Mischung mit dem Magen- und Darminhalt, sowie infolge der schnell fortschreitenden Resorption des Alkohols sehr rasch ab.

Die Ergebnisse von Untersuchungen der genannten Art veranschaulicht die auf Seite 5 nach Kochmann (l. c.) wiedergegebene Tabelle über den Einfluß des Äthylalkohols auf Pepsin.

Sie ergibt, daß die Angaben der einzelnen Forscher sehr voneinander abweichen. Eine Förderung der Pepsinverdauung bei geringen Alkoholzusätzen ist nur von Klikowicz sowie von Chittenden und Mendel beobachtet worden. Letztere fanden in einer langen Reihe von Versuchen, daß bei einer Konzentration von 1—2 % Alkohol eine leichte Neigung vorhanden ist, die Verdauungskraft für Eiweiß zu steigern. Enthält der Verdauungsbrei 5 bis 10 % Alkohol, so sahen sie eine deutliche Lähmung der verdauenden Wirkung, die bei 15—18 %iger Alkoholkonzentration auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ reduziert wurde. Alkoholische

Unwirksam %	Verlangsamung %	Aufhebung %	Autor und Jahr	
	14		Mayer	1880
5	20		Petit	1880
1—3	5	14	Fleischer	1881
5	10—20	20	Buchner	1881
	10	20	Bikfalvi	1884
5 Zunahme	10	15	Klikowicz	1885
	2	15	Schütz	1885
1—2 Zunahme	5—10—18	20	Chittenden und Mendel	1896
	2		Linossier	1899
	5—10		Laborde	1899
12,5			Thibault	1902
	0,5—0,75		Pawlowsky	1903
5	10—30	30	Fujitani	1905

Getränke haben somit, wie die Autoren angeben, auf die peptische Verdauung eine der Quantität des Alkohols proportionale Wirkung. Nach Thibault ist sogar ein Alkoholgehalt von 12,5 % noch ohne Einfluß auf die künstliche Pepsinverdauung, während ein höherer Gehalt die Wirksamkeit des Pepsins herabsetzt.

In neueren Versuchen, die Franzen[4]) durchführte, bewirkte Äthylalkohol bis zu einer Konzentration von etwa 11 % im Verdauungsgemisch eine Förderung der Eiweißspaltung, deren Optimum bei etwa 4 % lag. Höhere Konzentrationen hemmten die Verdauung, heben sie aber nicht völlig auf, auch nicht bei 30 %iger Alkoholkonzentration. Wein und Bier wirkten unter den gleichen Verhältnissen annähernd ihrem Alkoholgehalt entsprechend ebenfalls fördernd. Verdauungsversuche von Gradinesco und Palmhert[5]) mit Mett'schen Eiweißröhrchen unter Einwirkung von künstlichem und natürlichem Magensaft ergaben, daß Methyl- und Äthylalkoholkonzentrationen von 1—40 % die Verdauung hemmten.

Die Angaben über die Wirkung des Alkohols auf das diastatische Ferment weichen gleichfalls sehr voneinander ab. Nach Chittenden und Mendel (l. c.) führt bei

nicht zu verdünntem Speichel die Gegenwart von 5 % Alkohol zu einer leichten Zunahme der Verdauungskraft. Höhere Konzentrationen verursachen eine Verzögerung der amylatischen Wirkung, aber selbst 10 %ige Alkoholkonzentration hat nur eine leichte Verlangsamung zur Folge. Watson[6]) beobachtete nur eine Hemmung der diastatischen Wirkung des Speichels. Nach Seegen[7]) bewirkt sogar 47 % Alkohol kaum eine Aufhebung der Tätigkeit der Speicheldiastase. Bikfalvi[8]) fand 20 % Alkohol ohne Einfluß auf das diastatische Pankreasferment, dessen Wirksamkeit auch durch 60 % Alkohol noch nicht vollständig aufgehoben werde. Gizelt[9]) untersuchte, ob Äthylalkohol die Verdauungsstärke aller Fermente des Pankreas beeinflußt, und fand hierbei, daß Alkohol auf alle Fermente des Pankreas — also sowohl auf das eiweiß- als auch auf das fett- und das stärkeverdauende Ferment — einen schädigenden Einfluß ausübt. Bei Verdauungsversuchen mit Pankreassaft in vitro ergab sich, daß Alkohol auf die Spaltung von Eiweiß und Stärke ebenfalls einen schädigenden Einfluß hatte, hingegen auf die Fettverdauung günstig einwirkte, und zwar war die Spaltung umso energischer, je konzentrierter die Menge des verwendeten Alkohols war. Dieser fördernde Einfluß des Alkohols ist nach dem genannten Autor aber nicht auf eine unmittelbare Einwirkung auf das Ferment zu beziehen, sondern auf eine schnelle Umwandlung des Profermentes in das aktive Ferment.

Chittenden und Mendel (l. c.) geben an, daß die Gegenwart von Alkohol in 2—3 %iger Konzentration genügt, um eine deutliche Verlangsamung der Tätigkeit des Trypsins herbeizuführen. Von den alkoholischen Getränken hatten die Weine einen weit größeren hemmenden Einfluß auf die Trypsinverdauung als andere alkoholische Getränke, die an sich eine höhere Alkoholkonzentration aufwiesen. Dagegen fand Linossier[10]) bei 2 %iger Alkoholkonzentration eine Beschleunigung der Trypsinwirkung. Die Einwirkung des Alkohols auf das Labferment untersuchte Bikfalvi (l. c.) und beobachtete bei 10 %iger Alkoholkonzentration eine Verzögerung der Gerinnung; eine 5 %ige war ohne Einfluß. Das invertierende Ferment der Leber und Muskeln wird, wie Schöndorf und Vik-

torow[11]) nachwiesen, durch hohe Alkoholkonzentrationen gelähmt; wird aber das gut zerkleinerte Organ selbst mit der doppelten Menge Alkohol versetzt und mehrere Tage seiner Einwirkung überlassen, so ist die Wirksamkeit des invertierenden Fermentes doch noch nicht vollkommen erloschen, wenn der Alkohol entfernt wird.

Die Verschiedenheit der vorliegenden Angaben wird zum Teil verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß die einzelnen Autoren unter sehr verschiedenen Versuchsbedingungen gearbeitet haben. So waren z. B. die zum Versuch benutzten Fermentpräparate in ihrem Wirkungswert nicht gleich und in der angewandten Menge wechselnd. Es ist wohl zu verstehen, daß in einem Versuch bei gleicher Alkoholkonzentration die Hemmung der Fermenttätigkeit bei Gegenwart geringer Fermentmengen augenfälliger in Erscheinung tritt und eine Lähmung schon bei geringer Alkoholkonzentration beobachtet wird als bei Anwesenheit größerer Mengen eines stark aktiven Fermentpräparates. Noch weniger übersehbar werden die Verhältnisse, wenn natürliche fermenthaltige Flüssigkeiten zum Versuch verwendet werden. Außerdem muß aber bei der kritischen Würdigung der vorstehend genannten Versuche berücksichtigt werden, daß es sich um ältere Untersuchungen handelt, und daß sie somit unter Bedingungen angestellt wurden, die nach unseren heutigen Kenntnissen nicht mehr als einwandfrei angesehen werden können. — In Anbetracht der praktischen Bedeutung, die die Kenntnis des Einflusses des Äthylalkohols auf die Fermente und damit den Stoffwechsel in unserem Organismus besitzt, erschien es daher lohnend, diese Frage erneut zu prüfen und den Versuch zu unternehmen, die widerspruchsvollen Angaben der Literatur durch Befunde zu ergänzen, die unter einwandfreien Versuchsbedingungen erhalten wurden. Hierzu wurden wir umso mehr ermutigt, als es Keeser und Oelkers bereits gelungen ist, durch analoge Untersuchungen über den Einfluß von Morphin und Cocain wertvolle Aufschlüsse über die verschiedenartige Empfindlichkeit der Fermente den genannten Giften gegenüber zu erhalten und aus ihnen Schlüsse zu ziehen, welche Stoffwechselprozesse in erster Linie durch diese Alkaloide beeinflußt werden.

Im folgenden seien daher die Versuche beschrieben, die unternommen wurden, um den Einfluß des Äthylalkohols auf die Fermente Diastase, Pepsin, Trypsin, Pankreaslipase, Serumlipase und Leberesterase zu prüfen.

Diastase.

Zunächst wurde die Einwirkung von Äthylalkohol auf die Spaltung der Stärke durch Pankreasdiastase untersucht.

Zu unseren Versuchen benutzten wir als Substrat lösliche Stärke (Kahlbaum) und als Ferment die Pankreasdiastase purissimum (Witte, Rostock). Der Spaltungsverlauf wurde nach der etwas modifizierten Methode von Wohlgemuth geprüft, wie sie auch Schmatz[12]) anwandte, in der Erwartung, durch Zusätze von Äthylalkohol zu dem Substrat eine Einwirkung auf die Geschwindigkeit des Stärkeabbaus durch die Pankreasdiastase nachweisen zu können.

Wir gingen hierbei so vor, daß wir 2,0 g lösliche Stärke in 100,0 ccm Aqua dest. unter gelindem Erwärmen lösten und 20,0 ccm eines $^1/_3$ m Phosphatpuffers vom pH = 6,8 hinzufügten. Von dieser Stärke-Phosphatpufferlösung wurden in zwei Erlenmeyerkölbchen je 20,0 ccm hineinpipettiert. In das erste Kölbchen wurde sodann eine bestimmte Menge Aqua dest., in das zweite das entsprechende Volumen Äthylalkohol von wechselnder Konzentration zugefügt. Von der Pankreasdiastase wurde 0,1 g in 100,0 ccm Aqua dest. aufgeschwemmt und hiervon jedem Kölbchen 0,5 ccm zugegeben. Die Kölbchen wurden darauf in den Brutschrank (37°) gestellt. Nach einer halben Stunde wurde in Abständen von 10 Minuten, gegen Ende der Spaltung in Abständen von 5 Minuten je 1 ccm mit der Pipette entnommen. Hierzu wurden 2 Tropfen einer verdünnten Lugol'schen Lösung hinzugefügt. Das etwaige Ausbleiben der Blaufärbung zeigte die vollständige Aufspaltung der Stärke an.

Die Alkoholkonzentration wurde in den Versuchen von 0,0046—40 % variiert. In den niedrigen Konzentrationen (bis 30 %) ergab sich kein Unterschied in der Zeit bis zum Ausbleiben der Blaufärbung. Erst bei einem Alkoholgehalt von 30 % an konnte eine geringe hemmende Wirkung des Äthylalkohols beobachtet werden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen stimmen somit im wesentlichen mit den Angaben von Seegen und Bikfalvi überein. Dagegen konnten wir für eine Förderung der Diastasetätigkeit, wie sie Chittenden und Mendel sahen, keinerlei Anhaltspunkte gewinnen. Wie schon früher erwähnt wurde, dürfte das verschiedenartige Ergebnis dadurch eine Erklärung finden, daß die genannten Autoren mit anderem Material und unter anderen Versuchsbedingungen gearbeitet haben.

Pepsin.

Als Ferment benutzten wir Pepsin. pulverat. der Firma Fr. Witte, Rostock, in 5 %iger wässeriger Lösung; als Substrat diente Albumen ovi siccum (Witte), von dem 2,5 g in 50,0 ccm 1/20 n Salzsäure unter geringem Erwärmen gelöst und durch Zufügen einiger Tropfen 0,1 n HCl auf pH = 2,0 gebracht wurden. Von dieser Ovalbuminlösung wurden je 9,0 ccm in zwei mit Gummistopfen versehene Kölbchen einpipettiert. In das erste Kölbchen (Ansatz I) wurde sodann ein bestimmtes Volumen Aqua dest., in das zweite (Ansatz II) die entsprechende Menge Äthylalkohol von wechselnder Konzentration eingebracht. Außerdem kam in jedes Kölbchen noch 1,0 ccm der 5 %igen Pepsinlösung. Nach Feststellung des Anfangswertes wurde der Spaltungsverlauf in bestimmten Zeitabständen mit der Methode nach Linderström-Lang (Titration der NH_2-Gruppen mit 1/40 n alkoholischer Salzsäure in Aceton) festgestellt, wozu jedesmal 1 ccm dem Kolbeninhalt entnommen wurde. Die Kölbchen mit den Spaltungsansätzen blieben während der Versuchsdauer im Brutschrank (37°).

Versuch I.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm der beschriebenen Ovalbuminlösung, 1,0 ccm Aqua dest. und 1,0 ccm der 5 %igen Pepsinlösung. Ansatz 2 enthielt 9,0 ccm Ovalbuminlösung, 1,0 ccm Pepsinlösung und 1,0 ccm 10 %igen Äthylolkohol. — Die Alkoholkonzentration betrug demnach im Ansatz 2 0,909 %.

Titrationswerte in 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	0,68 ccm	0,81 ccm	0,93 ccm	1,07 ccm	1,91 ccm
2	0,68 ccm	0,81 ccm	0,92 ccm	1,07 ccm	1,89 ccm

Der Spaltungsverlauf war also in beiden Ansätzen gleich. Der geringe Unterschied in der Titration nach 24 Stunden liegt innerhalb der Fehlergrenze.

Versuch II.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm Ovalbuminlösung, 2,0 ccm Aqua dest. sowie 1,0 ccm 5 %ige Pepsinlösung.

Ansatz 2 enthielt 9,0 ccm Ovalbuminlösung, 1 ccm Pepsinlösung und 2,0 ccm 10 %igen Äthylalkohol. Im Ansatz 2 betrug die Alkoholkonzentration somit 1,7 %.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,02 ccm	1,13 ccm	1,22 ccm	1,39 ccm	1,85 ccm
2	1,02 ccm	1,13 ccm	1,21 ccm	1,38 ccm	1,85 ccm

Der Spaltungsverlauf war in beiden Ansätzen gleich.

Versuch III.

Ansatz 1 enthielt 9,5 ccm Ovalbuminlösung, 1,0 ccm Pepsinlösung und 0,5 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt 9,5 ccm Ovalbuminlösung, 1 ccm Pepsinlösung und 0,5 ccm 96 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 4,36 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	0,96 ccm	1,09 ccm	1,23 ccm	1,32 ccm	1,86 ccm

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
2	0,96 ccm	1,09 ccm	1,23 ccm	1,31 ccm	1,86 ccm

In beiden Ansätzen war der Spaltungsverlauf gleich.

Versuch IV.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm Ovalbuminlösung, 1,0 ccm Pepsinlösung und 1,0 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dieselbe Menge Ovalbumin- und Pepsinlösung sowie 1,0 ccm 96 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 8,7 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,02 ccm	1,13 ccm	1,22 ccm	1,38 ccm	1,85 ccm
2	1,02 ccm	1,12 ccm	1,21 ccm	1,39 ccm	1,85 ccm

Es ergab sich somit zwischen den beiden Ansätzen kein Unterschied im Spaltungsverlauf.

Versuch V.

Ansatz 1 enthielt 8,5 ccm Ovalbuminlösung, 1,5 ccm Aqua dest. und 1,0 ccm Pepsinlösung.

Ansatz 2 enthielt dasselbe, nur statt 1,5 ccm Aqua dest. 1,5 ccm 96 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 13,1 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	0,96 ccm	1,09 ccm	1,23 ccm	1,32 ccm	1,86 ccm
2	0,96 ccm	1,02 ccm	1,09 ccm	1,22 ccm	1,59 ccm

Unter diesen Versuchsbedingungen fand also eine deutliche Hemmung der Eiweißspaltung statt, die bei der Titration nach 24 Stunden am stärksten hervortrat. Versuche mit noch höheren Alkoholkonzentrationen konnten nicht verwertet werden, da hierbei bereits im Ansatz eine Eiweißfällung eintrat. Dagegen prüften wir noch die Einwirkung sehr geringer Alkoholzusätze in der Annahme, hier etwa eine Spaltungsförderung nachweisen zu können. Jeder Ansatz enthielt 9,0 ccm Ovalbuminlösung und 1,0 ccm Pepsinlösung. Außerdem enthielt Ansatz 1 einen Zusatz von 1,0 ccm Aqua dest., während Ansatz 2—4 Alkoholzusätze enthielten, durch die die Alkoholkonzentration

im Ansatz 2 = 0,091 %,
im Ansatz 3 = 0,0091 % und
im Ansatz 4 = 0,00091 % betrug.

Über die Ergebnisse dieser Versuche gibt die nachstehende Tabelle Aufschluß.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	0,68	0,81	0,93	1,07	1,91
2	0,68	0,81	0,92	1,07	1,89
3	0,68	0,81	0,93	1,06	1,90
4	0,68	0,81	0,91	1,07	1,91

Die geringen Unterschiede zwischen den einzelnen Ansätzen liegen innerhalb der Fehlergrenze der Methode. Der Spaltungsverlauf war somit in allen vier Ansätzen gleich.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der gewählten Versuchsanordnung in den Konzentrationen von 0,00091 bis 8,7 % sich kein Einfluß des Alkohols auf die Spaltung von Eieralbumin durch Pepsin feststellen ließ. Erst bei einer Konzentration von 13,1 % Alkohol wurde eine deutliche Hemmung der Eiweißspaltung beobachtet. Diese Befunde stehen in gewissem Gegensatz zu den Beobachtungen von Klikowicz, Chittenden und Mendel sowie Franzen, die bei geringen Alkoholkonzentrationen eine Förderung der Eiweißspaltung durch Pepsin beobachteten. Der Befund, daß durch höhere Alkoholkonzentrationen eine Hemmung der Pepsinwirkung ein-

tritt, über die alle früher erwähnten Autoren berichten, konnte auch durch unsere Ergebnisse bestätigt werden, wenngleich sich auch hierbei hinsichtlich der Alkoholkonzentration Abweichungen zwischen den gefundenen Ergebnissen ergaben. Diese dürften aber eine Erklärung darin finden, daß die genannten Autoren mit verschiedenen Methoden und anderem Material gearbeitet haben.

Trypsin.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Einwirkung des Äthylalkohols auf die Spaltung der Gelatine durch Trypsin untersucht. Hierbei wurde als Ferment Trypsinum puriss. der Firma Fr. Witte, Rostock, benutzt und als Substrat Gelatina alba (Witte) in einer 2,5 %igen Lösung.

Zunächst wurden 2,5 g Gelatina alba in 100,0 ccm Aqua dest. unter gelindem Erwärmen gelöst und bis zur leicht alkalischen Reaktion 1/10 n Natronlauge zugefügt. Die einzelnen Ansätze gestalteten sich folgendermaßen: In zwei mit Gummistopfen versehene Kölbchen wurden je 9,0 ccm der beschriebenen Gelatinelösung einpipettiert. (Wenn in einem Versuch eine geringere Menge verwandt wurde, so wird besonders darauf hingewiesen.) Dem ersten Kölbchen (Ansatz 1) wurde außerdem eine bestimmte Menge Aqua dest., dem zweiten (Ansatz 2) das entsprechende Volumen Äthylalkohol von wechselnder Konzentration zugefügt. Sodann erhielt jedes Kölbchen noch 0,5 ccm einer 1 %igen Trypsinlösung. Nach Feststellung des Anfangswertes wurden die verschlossenen Kölbchen in den Brutschrank (37°) gestellt und der Spaltungsverlauf in bestimmten Zeitabständen nach der Methode von Linderström-Lang verfolgt, wozu für jede Titration 1,0 ccm dem Kolbeninhalt entnommen wurde.

Versuch I.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm der beschriebenen Gelatinelösung, 1,0 ccm Aqua dest. und 0,5 ccm einer 1 %igen Trypsinlösung.

Ansatz 2 enthielt 9,0 ccm der Gelatinelösung, 0,5 ccm 1 %ige Trypsinlösung und 1,0 ccm 0,01 %igen Äthylalkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 0,00095 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,32 ccm	1,83 ccm	2,02 ccm	2,23 ccm	4,52 ccm
2	1,33 ccm	1,82 ccm	2,02 ccm	2,24 ccm	4,51 ccm

Der Spaltungsverlauf war also in beiden Ansätzen gleich. Die gefundenen kleinen Unterschiede der Titrationswerte liegen innerhalb der Fehlergrenze der Methode, die bei unseren Versuchen 0,02 ccm betrug.

Versuch II.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm Gelatinelösung, 0,5 ccm 1 %ige Trypsinlösung und 1,0 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dieselbe Menge Gelatine und Fermentlösung, jedoch statt 1,0 ccm Aqua dest. 1,0 ccm 0,1 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 0,0095 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,32 ccm	1,83 ccm	2,02 ccm	2,23 ccm	4,52 ccm
2	1,32 ccm	1,83 ccm	2,02 ccm	2,23 ccm	4,53 ccm

Der Spaltungsverlauf war somit bei beiden Ansätzen gleich.

Versuch III.

Ansatz 1 enthielt wieder 9,0 ccm Gelatinelösung, 0,5 ccm Fermentlösung und 1,0 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dasselbe, nur statt 1,0 ccm Aqua dest. 1 ccm 1 %igen Alkohol. In Ansatz 2 betrug die Alkoholkonzentration somit 0,095 %.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 3 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,33 ccm	1,85 ccm	2,18 ccm	2,32 ccm	4,32 ccm

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
2	1,33 ccm	1,85 ccm	2,16 ccm	2,30 ccm	3,94 ccm

Es zeigte sich also im Ansatz 2 eine geringe Hemmung der Spaltung durch Alkoholzusatz. Bemerkenswert ist, daß bei der Titration nach 1½ Stunden kein Unterschied zwischen den beiden Ansätzen bestand und auch bei den Abnahmen nach 4 und 6 Stunden lag er noch im Bereiche der Fehlergrenze. Erst bei der Titration nach 24 Stunden kam die spaltungshemmende Wirkung des Alkohols deutlich zum Ausdruck.

Versuch IV.

Ansatz 1 enthielt wie im vorhergehenden Versuch 9,0 ccm Gelatinelösung, 0,5 ccm Trypsinlösung und 1,0 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dasselbe, nur statt 1,0 ccm Aqua dest. 1 ccm 10 %igen Alkohol, wodurch die Alkoholkonzentration im Ansatz 2 0,95 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,33 ccm	1,85 ccm	2,18 ccm	2,32 ccm	4,32 ccm
2	1,34 ccm	1,83 ccm	2,06 ccm	2,20 ccm	3,86 ccm

Wir sehen auch hier wiederum eine Hemmung der Spaltung durch den Alkoholzusatz im Ansatz 2, die im Vergleich mit dem vorigen Versuch aber noch stärker in Erscheinung tritt und bei allen Abnahmen ungefähr im gleichen Verhältnis vorhanden ist. Der geringe Unterschied zwischen den Anfangswerten der beiden Ansätze liegt im Bereiche der Fehlergrenze.

Versuch V.

Ansatz 1 enthielt 8,0 ccm Gelatinelösung, 0,5 ccm Fermentlösung sowie 2,0 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dieselbe Menge Gelatine- und Fermentlösung, außerdem 2,0 ccm 10 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 1,9 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,33 ccm	1,85 ccm	2,18 ccm	2,32 ccm	4,32 ccm
2	1,33 ccm	1,76 ccm	2,04 ccm	2,14 ccm	3,81 ccm

Wiederum ist eine deutliche Spaltungshemmung im Ansatz 2 erkenntlich, die entsprechend der größeren Konzentration des Alkoholzusatzes auch wieder stärker ist als im vorigen Versuch.

Versuch VI.

Ansatz 1 enthielt 9,5 ccm Gelatinelösung, 0,5 ccm Trypsinlösung und 0,5 ccm Aqua dest.

Ansatz 2 enthielt dasselbe, nur statt 0,5 ccm Aqua dest. dieselbe Menge 96 %igen Alkohol. Somit betrug die Alkoholkonzentration im Ansatz 2 4,57 %.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,35 ccm	1,90 ccm	2,21 ccm	2,39 ccm	4,33 ccm
2	1,35 ccm	1,70 ccm	2,01 ccm	2,10 ccm	2,59 ccm

Es zeigte sich auch hier eine starke Spaltungshemmung durch den Alkoholzusatz im Ansatz 2. Bei der Titration nach 24 Stunden war diese wieder besonders deutlich zu erkennen.

Versuch VII.

Ansatz 1 enthielt 9,0 ccm der Gelatinelösung, 1,0 ccm Aqua dest. und 0,5 ccm der 1 %igen Trypsinlösung.

Ansatz 2 enthielt dieselbe Menge Gelatine- und Fermentlösung, aber außerdem 1,0 ccm 96 %igen Alkohol, so-

daß die Konzentration des Alkohols im Ansatz 2 = 9,1 % betrug.

Titrationswerte in ccm 1/40 n HCl.

Ansatz	Anfangs-titration	nach 1½ Stunden	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	1,33 ccm	1,85 ccm	2,18 ccm	2,32 ccm	4,32 ccm
2	1,33 ccm	1,68 ccm	1,97 ccm	2,00 ccm	2,35 ccm

Entsprechend der größeren Alkoholkonzentration trat die Spaltungshemmung im Ansatz 2 noch deutlicher hervor.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß sich bei der gewählten Versuchsanordnung in den Konzentrationen 0,00095 %—0,0095 % kein Einfluß des Äthylalkohols auf die Spaltung der Gelatine durch Trypsin feststellen ließ. Jedoch konnte in den Konzentrationen von 0,095 bis 9,1 % eine deutliche Spaltungshemmung durch Alkoholzusatz beobachtet werden. Diese Hemmung nahm mit steigendem Alkoholgehalt zu.

Eine spaltungsfördernde Wirkung des Alkohols, wie sie Linossier beschreibt, haben wir also in keinem Falle nachweisen können. Die untere Grenze der Spaltungshemmung, die nach Chittenden und Mendel bei einer Alkoholkonzentration von 2—3 % liegt, liegt in unseren Versuchen schon bei einer Alkoholkonzentration von 0,095 %.

Lipasen.

Weiter wurde geprüft, ob durch die Einwirkung von Äthylalkohol auf Lipasen eine Änderung im Spaltungsverlauf im Sinne einer Spaltungshemmung oder -förderung verursacht wird, und zwar wurde der Einfluß des Alkohols sowohl auf die Pankreaslipase als auch auf die menschliche Serumlipase untersucht.

Um die Wirkung der Lipase nachzuweisen, wurde die stalagmometrische Methode von Rona und Michaelis[13]) angewandt. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß Tributyrin die Oberflächenspannung einer wässerigen Lösung stark herabsetzt, während die durch die Lipasewirkung

entstehenden Spaltprodukte diese Eigenschaft nicht zeigen. Jeder Versuch bestand aus zwei Ansätzen. Der Ansatz I (als Kontrollansatz) enthielt außer der Tributyrinemulsion und dem Ferment nur eine bestimmte Menge Aqua dest. Er diente als Vergleich gegenüber dem Ansatz II, dem zu der Tributyrinlösung und der Fermentlösung statt des Aqua dest. das entsprechende Volumen Äthylalkohol von verschiedener Konzentration zugesetzt wurde. Bei unseren Versuchen betrug dieser Zusatz von Aqua dest. zum Ansatz I bzw. von Alkohol zum Ansatz II je 1,0 ccm. Bei Abweichungen wird besonders darauf hingewiesen. Alle Versuche wurden bei Zimmertemperatur (ca. 18° C.) ausgeführt.

Pankreaslipase.

Die Darstellung der Tributyrinlösung, auf die wir Pankreas- wie auch Serumlipase einwirken ließen, gestaltete sich folgendermaßen: Zwei Tropfen Tributyrin wurden mit 90,0 ccm Aqua dest. eine halbe Stunde lang im Schüttelapparat geschüttelt und darauf filtriert. Dazu gaben wir 10,0 ccm Phosphatpuffer vom pH = 7,16. Von dieser gepufferten Tributyrinemulsion wurden je 20,0 ccm in zwei Bechergläser einpipettiert. Wie schon erwähnt, wurde zum ersten Ansatz (I) ein bestimmtes Volumen Aqua dest. und zum zweiten Ansatz (II) dieselbe Menge Äthylalkohol von bestimmtem Prozentgehalt hinzugegeben. In beide Gläser kamen außerdem je 0,5 ccm Fermentlösung. Und zwar verwandten wir als Ferment die ebenfalls eine Lipase enthaltende Pankreasdiastase (der Firma Fr. Witte, Rostock), von der 0,1 g in 100,0 ccm aufgeschwemmt und nach einer halben Stunde filtriert wurden. Unmittelbar nach der Zugabe des Fermentes und dann alle 30 Minuten während der Dauer von 2 Stunden wurde die Tropfenzahl in den beiden Ansätzen bestimmt.

Versuch 1.

Ansatz I enthielt 20,0 ccm der beschriebenen gepufferten Tributyrinemulsion, 0,5 ccm der erwähnten Lipaselösung und 1,0 ccm Aqua dest.

Ansatz II enthielt dieselbe Menge Tributyrinemulsion und Fermentlösung sowie 1,0 ccm 0,01 %igen Alkohol, wo-

durch die Alkoholkonzentration im Ansatz II 0,00045 % betrug. Die Beobachtung der Tropfenzahl in einem Stalagmometer, dessen Wasserwert 97 Tropfen war, ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	157	157
„ 30 „	146	145
„ 60 „	140	139
„ 90 „	131	131
„ 120 „	125	125

Es fand sich also kein Unterschied in der Spaltungsgeschwindigkeit der beiden Ansätze. Die Unterschiede um einen Tropfen liegen im Bereich der Fehlergrenze, die für unsere Versuche mit 2 Tropfen angesetzt wurde. Dieses, wie auch alle in dieser Arbeit veröffentlichten Ergebnisse wurden durch mindestens einen (meist mehrere) Parallelversuch gesichert. — Im Versuch 2 enthielten Ansatz I und Ansatz II wieder dieselben Mengen Tributyrinemulsion und Fermentlösung wie im Versuch 1. Nur enthielt Ansatz II 1,0 ccm 0,1 %igen Äthylalkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 0,0016 % betrug. In Ansatz I kam die entsprechende Menge Aqua dest. hinzu. Die Tropfenzahl betrug:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	150	150
„ 30 „	123	123
„ 60 „	113	114
„ 90 „	109	109
„ 120 „	106	106

Der Spaltungsverlauf ist somit in beiden Ansätzen gleich. — Versuch 3 enthielt im Ansatz II 1,0 ccm 1 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 0,046 % betrug. Die Bestimmung der Tropfenzahl ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	155	155
„ 30 „	144	144
„ 60 „	136	135
„ 90 „	126	126
„ 120 „	123	123

Auch hier ergab sich also kein Unterschied im Spaltungsverlauf der beiden Ansätze. — Um einen Alkoholgehalt von 0,089 % im Ansatz II zu erreichen, wurden im Versuch 4 zum Ansatz II 2,0 ccm 1 %igen Alkohol zugefügt und zum Ansatz I die entsprechende Menge Aqua dest. Die Menge an Tributyrinemulsion und Fermentlösung war dieselbe wie in den vorhergehenden Versuchen. Die Tropfenzahl war:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	142	142
„ 30 „	128	127
„ 60 „	114	114
„ 90 „	111	111
„ 120 „	107	108

Der Spaltungsverlauf war also in beiden Ansätzen gleich; denn die geringen Unterschiede in der Tropfenzahl der beiden Ansätze liegen innerhalb der Fehlergrenze. — Ein weiterer Versuch mit einem Prozentgehalt von 0,46 % Alkohol im Ansatz II ergab folgendes (Versuch 5):

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	150	149
„ 30 „	126	125
„ 60 „	116	116
„ 90 „	108	108
„ 120 „	105	105

Es fand sich also kein Unterschied in der Spaltungsgeschwindigkeit der beiden Ansätze.

Infolge Zusatz von 2,0 ccm 10 %igen Alkohols betrug im Versuch 6 die Alkoholkonzentration 0,89 % im Ansatz II. Die Tropfenzahl betrug:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	150	150
„ 30 „	139	140
„ 60 „	135	136
„ 90 „	126	128
„ 120 „	120	121

Die Unterschiede in der Tropfenzahl der beiden Ansätze lagen auch hier noch im Bereich der Fehlergrenze.

Dagegen konnte in dem folgenden Versuch bereits ein deutlicher Einfluß des Alkohols auf die Fermentwirkung festgestellt werden. Der Alkoholgehalt im Ansatz II betrug im Versuch 6 = 4,18 %. Die Beobachtung der Tropfenzahl ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	154	155
„ 30 „	131	136
„ 60 „	119	130
„ 90 „	110	127
„ 120 „	106	125

Es fand sich somit eine deutliche Hemmung der Spaltungsgeschwindigkeit, die durch den Einfluß des stärkeren Alkoholzusatzes hervorgerufen wurde. Am größten war dieser Unterschied naturgemäß gegen Ende der Spaltung, wie es aus der Tropfenzahl nach 120 Minuten ersichtlich ist. Steigerten wir weiterhin den Alkoholgehalt, so war die Hemmung der Spaltung ebenfalls vollkommener. Im Versuch 7 wurden zu Ansatz II 2 ccm 96 %igen Alkohols gegeben, sodaß die Alkoholkonzentration 8,5 % betrug. Die Bestimmung der Tropfenzahl ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	152	153
„ 30 „	128	148
„ 60 „	117	145
„ 90 „	111	143
„ 120 „	105	142

Der Unterschied in der Spaltungsgeschwindigkeit trat hierbei also noch deutlicher in Erscheinung; denn im Ansatz II war die Spaltungshemmung schon fast vollständig. Ein noch stärkerer Alkoholgehalt hat praktisch keine Bedeutung mehr, weswegen wir es unterlassen haben, mit noch höheren Alkoholkonzentrationen zu arbeiten.

Zusammenfassend ist also zu sagen, daß in den Konzentrationen von 0,00045 % bis 0,89 % sich bei der gewählten Versuchsanordnung kein Einfluß des Alkohols auf die Spaltung des Tributyrins durch Pankreaslipase feststellen ließ. Doch wurde bei einer Alkoholkonzentration von 4,18 % an eine deutliche Spaltungshemmung beob-

achtet, die bei 8,5 % Alkoholgehalt fast vollständig war. Hingegen konnten wir in keinem Falle Anhaltspunkte für eine spaltungsfördernde Wirkung des Alkohols finden, wie sie Gizelt beschreibt.

Serumlipase.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Einwirkung des Äthylalkohols auf die Spaltung des Tributyrins durch menschliche Serumlipase untersucht. Zu diesem Zwecke wurde Blut einem gesunden Menschen steril aus der Armvene entnommen und durch Zentrifugieren das Serum gewonnen, das dann unverdünnt verwandt wurde. Wie in den Versuchen mit Pankreaslipase (s. o.) wurde auch dier der Spaltungsverlauf nach der Methode von Rona und Michaelis geprüft, indem unmittelbar nach Zugabe des Serums und dann alle 30 Minuten während der Dauer von 2 Stunden die Tropfenzahl in den beiden Ansätzen bestimmt wurde.

Versuch 1.

Ansatz I enthielt 20,0 ccm der schon erwähnten gepufferten Tributyrinemulsion, 1,0 ccm Aqua dest. und 0,5 ccm unverdünntes menschliches Blutserum. Ansatz II enthielt 20,0 ccm Tributyrinemulsion, 0,5 ccm Serum und 1,0 ccm 0,01 %igen Äthylalkohol. Die Alkoholkonzentration im Ansatz II betrug also 0,00046 %.

Die Beobachtung der Tropfenzahl im Stalagmometer, dessen Wasserwert 97 Tropfen war, ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	145	145
„ 30 „	135	134
„ 60 „	126	125
„ 90 „	115	115
„ 120 „	111	111

Der Spaltungsverlauf war also in beiden Ansätzen gleich.

Es folgte nun ein Versuch mit einer Alkoholkonzentration von 0,0046 % im Ansatz II (Versuch 2). Die Tributyrin- und Serummenge war die gleiche wie im vorigen Versuch. Die Tropfenzahl betrug:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	145	145
„ 30 „	136	136
„ 60 „	130	130
„ 90 „	122	122
„ 120 „	115	115

Der Spaltungsverlauf war somit wieder in beiden Ansätzen gleich.

In Versuchen mit einer Serumverdünnung 1 : 10, wie sie z. B. Singer[14]) in seinen Untersuchungen verwandte, ging die Tributyrinspaltung zu langsam vor sich. Deshalb wurde in allen folgenden Versuchen wieder unverdünntes Serum benutzt. — Die Alkoholkonzentration betrug im nächsten Versuch 0,0089 % (Versuch 3). Die Bestimmung der Tropfenzahl ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	142	143
„ 30 „	124	124
„ 60 „	112	112
„ 90 „	107	106
„ 120 „	102	103

Auch hier fand sich also kein Unterschied im Spaltungsverlauf der beiden Ansätze. Das gleiche Ergebnis hatten die drei folgenden Versuche.

Der Alkoholgehalt des Ansatz II betrug im Versuch 4 = 0,0465 %, im Versuch 5 = 0,088 % und im Versuch 6 = 0,465 %. Das benutzte Stalagmometer hatte einen Wasserwert von 97 Tropfen. Die nachstehende Tabelle gibt über das Ergebnis dieser drei Versuche Auskunft. Die Tropfenzahl betrug nach:

Zeit	Versuch 4		Versuch 5		Versuch 6	
	Ansatz I	Ansatz II	Ansatz I	Ansatz II	Ansatz I	Ansatz II
0 Min.	139	139	149	149	137	137
30 „	133	132	131	131	123	124
60 „	124	124	114	113	110	110
90 „	115	115	108	108	106	106
120 „	106	106	104	103	103	103

Die geringen Unterschiede um einen Tropfen liegen im Bereiche der Fehlergrenze. Ein Einfluß des Alkohols auf die Fermentwirkung konnte also in den untersuchten Konzentrationen nicht beobachtet werden. Noch höhere Alkoholkonzentrationen dürften im menschlichen Blute kaum vorkommen. Trotzdem haben wir unsere Versuche mit noch stärkeren Alkoholzusätzen fortgesetzt, da deren Ergebnisse immerhin ein theoretisches Interesse beanspruchen dürften. Im Versuch 7 wurden dem Ansatz II 2 ccm 10 %igen Alkohol zugefügt, so daß die Alkoholkonzentration im Ansatz II 0,89 % betrug. Die Beobachtung der Tropfenzahl ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	144	144
„ 30 „	126	130
„ 60 „	114	120
„ 90 „	108	113
„ 120 „	101	107

Wir sehen hier bereits einen geringen spaltungshemmenden Einfluß des Alkoholzusatzes. Wie auch bei den Versuchen mit Pankreaslipase die hemmende Wirkung des Alkohols direkt proportional dem Alkoholgehalt zunahm, so trat auch hier bei stärkeren Alkoholzusätzen die Hemmung noch deutlicher in Erscheinung. Im Versuch 8 wurden zu 20,0 ccm Tributyrinemulsion und 0,5 ccm Serum in Ansatz I 1,0 ccm Aqua dest. und in Ansatz II 1,0 ccm 96 %iger Alkohol zugegeben, was einem Alkoholgehalt von 4,26 % im Ansatz II entspricht. Die Tropfenzahl war:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	145	146
„ 30 „	126	140
„ 60 „	112	133
„ 90 „	105	128
„ 120 „	103	127

Im Ansatz II trat unter dem Einfluß des Alkohols eine starke Hemmung der Spaltung auf. Der Spaltungsunterschied nach 120 Minuten betrug im Versuch 7 6 Tropfen,

während er im Versuch 8 nach derselben Zeit schon 24 Tropfen ausmachte.

Versuch 9 enthielt in jedem Ansatz wieder 20,0 ccm Tributyrinemulsion und 0,5 ccm Serum, außerdem im Ansatz I 2,0 ccm Aqua dest. und im Ansatz II 2,0 ccm 96 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration im Ansatz II 8,53 % betrug. Die Bestimmung der Tropfenzahl im Stalagmometer ergab:

Zeit	Ansatz I	Ansatz II
nach 0 Minuten	149	157
„ 30 „	139	156
„ 60 „	128	155
„ 90 „	120	154
„ 120 „	115	153

Während der Spaltungsdauer von 2 Stunden hat sich die Tropfenzahl im Ansatz II nur ganz wenig vermindert, was einer fast vollständigen Lähmung der Lipasewirkung unter dem Einfluß des Alkohols gleichkommt. Auffallend ist in diesem Versuch, daß vor Beginn der Spaltung die Tropfenzahl im Ansatz II größer ist als im Ansatz I. Diese Erscheinung findet ihre Erklärung darin, daß Äthylalkohol selbst oberflächenaktiv ist. Während in den geringen Konzentrationen diese Eigenschaft des Alkohols praktisch keine Rolle spielte und die Ergebnisse unserer Untersuchungen keineswegs beeinträchtigte, ist sie bei dem höheren Alkoholgehalt deutlich erkennbar, doch wird der Nachweis der Lipasewirkung hierdurch nicht gestört.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß sich in den Konzentrationen von 0,00046 % bis 0,465 % kein Einfluß des Alkohols auf die Spaltung des Tributyrins durch Serumlipase feststellen ließ. Bei einem Alkoholgehalt von 0,89 an wurde eine deutliche Hemmung der Spaltung beobachtet, die bei noch stärkeren Alkoholzusätzen proportional dem Alkoholgehalt zunahm und bei einer Konzentration von 8,53 % in eine fast vollständige Lähmung der Lipasewirkung überging.

Esterase.

Schließlich wurde geprüft, ob Äthylalkohol die Hydrolyse des buttersauren Äthyls durch Menschenleberesterase beeinflußt.

Die Esterase wurde folgendermaßen gewonnen: Leber (vom Menschen) wurde von Bindegewebe, größeren Gefäßen und Gallengängen befreit, zerschnitten und durch den Wolf gedreht. Darauf wurde mehrmals mit der gleichen Menge Azeton, dann mit einer Mischung, die zu gleichen Teilen aus Azeton und Äther bestand, und zuletzt zweimal mit reinem Äther geschüttelt und die Flüssigkeit jedesmal auf der Nutsche abgesaugt. Dann wurde das zunächst noch grobe Leberpulver 24 Stunden zum Trocknen auf Filtrierpapier ausgebreitet und danach durch ein Haarsieb getrieben, sodaß ein feinkörniges Pulver erhalten wurde. Von diesem wurden 0,5 g in 10,0 ccm Wasser aufgeschwemmt. Hierzu wurden 0,1 ccm einer 25 %igen wässerigen Ammoniaklösung gegeben und das Ganze eine Stunde lang in den Brutschrank (37°) gestellt. Darauf wurde mit 1 %iger Essigsäure neutralisiert, danach zentrifugiert, die Flüssigkeit abpipettiert und hiervon je 1,0 ccm den Ansätzen zugefügt. Als Substrat wurde Buttersäureäthylester verwandt, von dem 1,0 ccm zu 200,0 ccm Aqua dest. zugesetzt und in der Schüttelmaschine ½ Stunde geschüttelt wurden. Dieser Lösung wurden 10 Tropfen Methylrot zugefügt, ferner einige Tropfen 1/10 n HCl. Der entstandene rote Farbton wurde durch Zugabe von 1/10 n NaOH zum Umschlag in Gelb gebracht.

Die einzelnen Ansätze gestalteten sich folgendermaßen: In zwei mit Gummistopfen versehene Kölbchen wurden je 20,0 ccm der beschriebenen Buttersäureäthylesteremulsion einpipettiert. In das erste Kölbchen (Ansatz I) wurde sodann 1,0 ccm Aqua dest. und in das zweite (Ansatz II) das entsprechende Volumen Alkohol von bestimmter Konzentration hinzugefügt. Sodann kamen in jedes Kölbchen 1,0 ccm der beschriebenen Esteraselösung. Danach wurden die Kölbchen verschlossen, nach kurzem Umschütteln in den Brutschrank (37°) gestellt und nach bestimmten Zeitabständen wieder herausgenommen. Der in den Ansätzen bei der Spaltung entstehende rosa Farbton wurde dann jedesmal durch Titration mit 1/40 n NaOH zum Umschlag in Gelb gebracht. Die Stärke der Spaltung konnten wir somit aus der verbrauchten Laugenmenge ersehen.

Versuch 1.

Ansatz I enthielt 20,0 ccm der beschriebenen Butter-

säureäthylesteremulsion, 1,0 ccm der erwähnten Esteraselösung und 1,0 ccm Aqua dest. Ansatz II enthielt dasselbe, nur statt 1,0 ccm Aqua dest. 1,0 ccm 0,1 %igen Alkohol, sodaß die Alkoholkonzentration 0,0045 % betrug.

Titrationswerte in ccm 0,025 n NaOH.

Ansatz	nach ½ Stunde	nach 1½ Stunden	nach 2½ Stunden	nach 5 Stunden
I	1,78	4,18	6,50	9,09
II	1,81	4,24	6,57	9,10

Der Spaltungsverlauf war also in beiden Ansätzen gleich. Die geringen Unterschiede liegen innerhalb der Fehlergrenze der Methode.

Im Versuch 2 betrug die Alkoholkonzentration im Ansatz II 0,045 %.

Titrationswerte in ccm 0,025 n NaOH.

Ansatz	nach ½ Stunde	nach 1½ Stunden	nach 2½ Stunden	nach 5 Stunden
I	1,47	5,16	7,21	10,80
II	1,44	5,07	7,13	10,77

Der Spaltungsverlauf war in beiden Ansätzen gleich. Das gleiche Ergebnis zeigten auch zwei weitere Versuche (3 und 4) mit einem Alkoholgehalt von 0,008 und 0,087 % im Ansatz II.

Dagegen war in den folgenden Versuchen mit noch höherem Alkoholgehalt eine Beeinflussung der Spaltung deutlich zu beobachten.

Im Versuch 5 betrug der Alkoholgehalt im Ansatz II = 0,45 %. Die Titration mit 0,025 n NaOH ergab:

Ansatz	nach ½ Stunde	nach 1½ Stunden	nach 2½ Stunden	nach 5 Stunden
I	1,78 ccm	4,18 ccm	6,50 ccm	9,09 ccm
II	1,76 ccm	4,10 ccm	6,30 ccm	8,62 ccm

Wir sehen also, daß unter dem Einfluß des Alkohols im Ansatz II eine geringe Hemmung der Spaltung eingetreten ist.

Nach Zusatz von 2,0 ccm 10 %igen Alkohols betrug die Alkoholkonzentration des Absatz II im folgenden Versuch 6 = 0,87 %.

Titrationswerte in ccm 0,025 n NaOH.

Ansatz	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 3 Stunden	nach 24 Stunden
I	2,92	5,61	8,23	9,06
II	1,94	3,56	4,95	5,74

Hier war eine starke Spaltungshemmung zu beobachten. Wenn auch höhere Alkoholkonzentrationen physiologisch in der Leber nicht vorkommen dürften, so haben wir doch aus theoretischen Erwägungen unsere Versuche mit noch stärkeren Alkoholzusätzen fortgesetzt. So hatte im nächsten Versuch 7 Ansatz II einen Alkoholgehalt von 4,3 %.

Titrationswerte in ccm 0,025 n NaOH.

Ansatz	nach ½ Stunde	nach 1½ Stunden	nach 2½ Stunden	nach 5 Stunden
I	1,78	4,18	6,50	9,09
II	0,42	1,01	1,54	2,38

Die Spaltung wurde hier also erheblich stärker gehemmt als in Versuch 6.

Versuch 8 enthielt in Ansatz II eine Alkoholkonzentration von 8,35 %.

Titrationswerte in ccm 0,025 n NaOH.

Ansatz	nach 1 Stunde	nach 2 Stunden	nach 3 Stunden	nach 24 Stunden
I	2,92	5,61	8,23	9,06
II	0,32	0,50	0,66	1,29

Hierbei kann nur noch eine ganz geringe Spaltung des Buttersäureäthylesters nachgewiesen werden.

Versuch 9 enthielt in Ansatz II eine Alkoholkonzentration von 18,2 %. Bei diesem Alkoholgehalt konnte innerhalb von 24 Stunden nicht die geringste Spaltung im Ansatz II nachgewiesen werden.

Zusammenfassend ist also zu sagen, daß in unseren Versuchen ein Alkoholgehalt von 0,0045 % bis 0,087 % auf

die Hydrolyse des buttersauren Äthyls durch Menschenleberesterase ohne Einfluß war. Von 0,45 %iger Konzentration an bewirkte Alkohol eine Spaltungshemmung, die bei steigendem Alkoholgehalt zunahm. Bei 18,2 %iger Alkoholkonzentration war die Wirkung der Leberesterase vollständig aufgehoben.

Zusammenfassung.

1. Es wurden die bisher in der Literatur mitgeteilten Befunde über die Einwirkung von Äthylalkohol auf Fermente besprochen.
2. In eigenen Versuchen wurde gefunden, daß unter den geschilderten Versuchsbedingungen Äthylalkohol
   a) Pankreasdiastase in 0,0046—30 %iger Konzentration nicht beeinflußte, in Konzentrationen von 30 % an aufwärts hemmte;
   b) Pepsin in 0,00091—8,7 %iger Konzentration nicht beeinflußte, in einer Konzentration von 13,1 % an aufwärts die Eiweißspaltung durch Pepsin hemmte;
   c) auf das Trypsin in Konzentrationen von 0,00095 bis 0,0095 % ohne Einfluß war, bei einem Gehalt von 0,095—9,1 % eine Spaltungshemmung bewirkte;
   d) Pankreaslipase in 0,00045—0,89 %iger Konzentration in ihrer Wirksamkeit nicht beeinträchtigte, in Konzentrationen von 4,18 % an spaltungshemmend wirkte;
   e) auf Serumlipase in 0,00046—0,465 %iger Konzentration keinen Einfluß hatte. Bei einem Alkoholgehalt von 0,89 % an wurde eine deutliche Hemmung der Spaltung beobachtet, die bei einer Konzentration von 8,53 % in eine fast vollständige Lähmung der Lipasewirkung überging;
   f) Leberesterase in einer Konzentration von 0,0045 bis 0,087 % nicht beeinflußte. Von 0,45 %iger Konzentration an wirkte Alkohol spaltungshemmend. Durch 18,2 %ige Alkoholkonzentration wurde das Ferment vollständig gelähmt.

Es sei mir an dieser Stelle erlaubt, Herrn Professor Dr. Keeser für die Überlassung des Themas und Unterstützung bei meiner Arbeit, sowie Herrn Dr. Oelkers ganz ergebenst zu danken.

Literaturverzeichnis.

1. Kochmann, M.: Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie I, 269 (1923).
2. Klikowicz: Virchows Archiv 102, 360 (1885), zit. nach Kochmann.
3. Chittenden u. Mendel: Amer. journ. of the med. sciences (1896), zit. nach Malys Jahresber. d. Tierchemie 26, 403 (1896).
4. Franzen: Archiv für exp. Pathol. u. Pharmakologie 133, 111 (1928).
5. Gradinesco u. Palmhert: J. Physiol. et Path. gén. 29,45 (1931), zit. n. Berichte über d. ges. Physiol. u. exp. Pharm. 62, 332 (1931).
6. Watson, W. H.: Journ. Chem. Soc. 539 (1879), zit. n. Kochmann.
7. Seegen: Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien. Mathem.-naturw. Kl. 111, III 291 (1902), zit. n. Kochmann.
8. Bikfalvi: Orvoster mészetta domanyi. Ertesito (1884), zit. n. Kochmann.
9. Gizelt: Pflügers Archiv 111, 620 (1906) und Zentralbl. f. Physiol. 19, 769 (1906).
10. Linossier: Compt. rend. de la soc. de biol. 51, 887 (1899), zit. nach Kochmann.
11. Schöndorf u. Viktorow: Archiv f. d. ges. Physiol. 116, 495 (1907), zit. nach Kochmann.
12. Schmatz: Diss. Rostock 1932.
13. Rona u. Michaelis: Biochem. Zeitschr. 31, 345 (1911).
14. Singer: Diss. Rostock 1932.

Lebenslauf.

Am 7. Januar 1908 wurde ich als Sohn des Gasthofbesitzers Heinrich Bock in Deutsch-Usch (Grenzmark) geboren.

Ostern 1928 erhielt ich das Reifezeugnis der Oberrealschule zu Schneidemühl. Im Wintersemester 1928 begann ich in Königsberg Pr. das Studium der Zahnheilkunde und legte dort am 21. Februar 1930 die zahnärztliche Vorprüfung ab. Danach studierte ich nacheinander an den Universitäten Leipzig, Göttingen und Rostock, wo ich am 13. Juni 1932 das zahnärztliche Staatsexamen bestand. Die Approbation als Zahnarzt erhielt ich am 20. Juni 1932.